

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от \_\_\_\_\_ 200 г. № \_\_\_\_\_

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН

Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии

\_\_\_\_\_ И.А. Дятлов

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

### по применению набора реагентов для бактериологических исследований «Питательный агар для обнаружения *E.coli* и колиформных бактерий, сухой» (ЛАКТОЗНЫЙ ТТХ АГАР С ТЕРГИТОЛОМ 7)

#### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Лактозный ТТХ агар с тергитолом 7 предназначен для обнаружения *E.coli* и колиформных бактерий при проведении бактериологических исследований.

#### 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Лактозный ТТХ агар с тергитолом 7 представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного гигроскопичного порошка от желтого до светло-коричневого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

##### 2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав набора, обеспечивала питательные потребности для роста, дифференциации и ингибиции отдельных видов микроорганизмов. Дифференцирующие свойства среды основаны:

- на изменении рН в кислую сторону при росте лактозоферментирующих бактерий, которые образуют на среде колонии желтого или желто-оранжевого цвета с желтой зоной вокруг колоний;
- на восстановлении ТТХ лактозоотрицательными бактериями, которые окрашиваются в красно-коричневый цвет.

Селективность среды обеспечивает тергитол 7, додецилсульфат натрия и 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид (ТТХ), подавляющие рост большинства грамположительных бактерий.

## 2.2. Состав набора

Лактозный ТТХ агар с тергитолом 7 представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки с тергитолом 7 .....	6,1
Дрожжевой экстракт .....	5,0
Д (+)-лактоза, 1-водная .....	10,0
Бромтимоловый синий .....	0,08
Натрий додецилсульфат .....	0,1
2,3,5-трифенилтетразолия хлорид .....	0,025
Натрий углекислый .....	0,15±0,1
Агар микробиологический .....	11,0±3,0

## 3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Лактозный ТТХ агар с тергитолом 7 обеспечивает через 20-24 ч инкубации при температуре (37±1) °С визуально обнаруживаемый рост энтеробактерий, четкую дифференциацию сальмонелл от эшерихий и подавляет рост стафилококков.

## 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

## 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат обеспечивающий температуру 37±1 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные вместимостью – 10 мл
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в клинической микробиологии.

## 7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

### 7.1. Приготовление Лактозного ТТХ агара с тергитолом 7.

Препарат в количестве, необходимом для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, нагревают до кипения и кипятят при постоянном перемешивании в течение 3-4 мин на медленном огне до полного расплавления агара. Охлаждают до температуры 40-50 °С и разливают в чашки Петри, подсушивают на рабочем столе с открытыми крышками при температуре 18-25 °С.

Готовая среда в чашках прозрачная зеленого цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 14 сут после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °С.

7.2. Взятие, посев исследуемого материала проводят в соответствии с «Методическими указаниями по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями» (М., 1984 г), приказом Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» и других нормативных документов.

7.3. Исследуемый материал вносят соответственно на две чашки Петри с Лактозным ТТХ агаром с тергитолом 7 и стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности среды. Инкубируют при температуре (37±1) °С в течение 20-24 ч.

## 8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят через 20-24 ч инкубации визуально учитывая наличие и характер роста:

- колонии *E. coli* 3912/41(055:K59), *E. coli* ATCC 25922 – желто-оранжевого цвета с желтой зоной, диаметром 2,0-3,0 мм;
- колонии *K. pneumoniae* 418 – круглые, слизистые, оранжевого цвета, диаметром 2,5-4,0 мм;
- колонии *S. sonnei* «S-form» - круглые, красно-коричневого цвета с синей зоной, диаметром 1,5-2,5 мм.
- колонии *S. typhimurium* 79 –красно-коричневого цвета с неровным краем и с синей зоной, диаметром 2,0-3,5 мм.

Рост стафилококков отсутствует.

Для получения достоверных результатов посевы образцов производить не менее чем в трех повторностях.

## 9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Лактозный ТТХ агар с тергитолом 7 необходимо хранить в герметично закрытой упаковке при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности набора реагентов: 2 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит. В течение срока годности и начала эксплуатации Лактозного ТТХ агара с тергитолом 7 гарантируется соответствие требуемым параметрам при соблюдении условий хранения (влажность, температура, герметичность).

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества «Питательный агар для обнаружения *E.coli* и колиформных бактерий, сухой (Лактозный ТТХ агар с тергитолом 7)» в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.